



TITLE:

# Biocommunication between plants and honeybees through pollen fluorescence( Abstract\_要旨 )

AUTHOR(S):

Mori, Shinnosuke

---

CITATION:

Mori, Shinnosuke. Biocommunication between plants and honeybees through pollen fluorescence. 京都大学, 2019, 博士(農学)

ISSUE DATE:

2019-01-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21467>

RIGHT:

許諾条件により全文は2022-06-11に公開; 学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は2019-05-03に公開; Chapters II & III, adapted by permission from Springer Customer Service Centre GmbH: Springer Nature, Journal of Chemical Ecology, Biocommunication between Plants and Pollinating Insects through Fluorescence of Pollen and Anthers, Mori S, Fukui H, Oishi M, Sakuma M, Kawakami M, Tsukioka J, Goto K, & Hirai N, 2018 (<https://doi.org/10.1007/s10886-018-0958-9>).

( 続紙 1 )

京都大学	博士（農学）	氏名	森 信 之 介
論文題目	Biocommunication between plants and honeybees through pollen fluorescence （花粉の蛍光を介した植物とミツバチのバイオコミュニケーション）		
（論文内容の要旨）			
<p>多くの植物の葯と花粉は紫外線下で青色蛍光を発する。この蛍光の機能として、紫外線からのDNA保護と送粉昆虫の視覚的誘引が考えられる。しかし葯と花粉に含まれる蛍光物質はこれまでに調べられておらず、またその生物学的・生態学的な機能についても明らかになっていない。本論文は、葯と花粉に含まれる蛍光物質を同定し、ミツバチを用いた行動実験によって蛍光物質の機能を明らかにすることを目的としている。</p> <p>第1章では、花粉の形態と発達過程ならびに受粉のメカニズムと送粉者の重要性、送粉サービス、送粉者の色覚と視覚受容体、花粉に含まれる一次誘引物質と二次誘引物質、蛍光の原理と蛍光を介した生物間バイオコミュニケーションについて概説するとともに、本研究の目的について述べている。</p> <p>第2章では、オニナバナなど5種類の植物の葯と花粉に含まれる青色蛍光物質を単離し、それらを3,5-dicaffeoylquinic acid、chlorogenic acid、(E)-acteosideとそのZ異性体、1-O-(E)-feruloyl-β-D-glucoseとそのZ異性体と同定したことについて述べている。それらの蛍光スペクトルがそれぞれの葯と花粉の蛍光スペクトルと一致することから、それらが葯と花粉の蛍光物質の主成分であることも明らかにしている。これによって葯と花粉が示す蛍光の化学的本体が初めて明らかになった。また電子顕微鏡と多光子励起蛍光顕微鏡を用いた観察から、花粉の蛍光物質が細胞外のポレンコートに局在していることも明らかにした。同定した6種類のヒドロキシ桂皮酸類は代表的な抗酸化剤であるL-ascorbic acidやcaffeic acidと同等の抗酸化活性を示す。したがって花粉に含まれる蛍光物質は、細胞外で紫外線を吸収してそのエネルギーを蛍光に変換して放出するだけでなく、抗酸化剤としても機能することによって紫外線から花粉中のDNAを保護していると推察された。</p> <p>第3章では、太陽光下での行動実験によって、セイヨウミツバチが視覚的に蛍光物質に誘引されることを明らかにしている。被験物質として花粉の代表的な蛍光物質であるchlorogenic acidを用い、chlorogenic acid含有ろ紙と無処理ろ紙を選択させたところ、セイヨウミツバチは前者を有意に多く訪問することが判明した。またその誘引性はchlorogenic acid含有ろ紙の蛍光強度および励起光である太陽光の紫外線強度に依存的であった。これらの結果から、葯と花粉に含まれる蛍光物質はセイヨウミツバチを含む送粉昆虫の視覚的な誘引に寄与している可能性が高いことが示された。また送粉シンドロームの観点から花粉が蛍光を発する植物種は虫媒花に限定されるか否かを調べるため、風媒花の花粉蛍光を調べた結果、アカマツやメタセコイアの花粉も虫媒花と同様に青色蛍光を発することが分かった。このことから、植物の進化の過程において、花粉中のDNAを保護することが蛍光物質のより原始的な機能であったと考えられた。このことから、地球上に被子植物が誕生し、次いで訪花昆虫が出現した時点で、葯と花粉に含まれる蛍光が誘引物質として利用されるようになった可能性を提唱している。</p> <p>第4章では、ウメ（品種 南高）の花粉が発する蛍光の分光特性と花粉の発達ならびに蛍光物質を含む化学成分を調べ、それらの結果よりウメの受粉とセイヨウミツバチ</p>			

の行動特性の関係性について論じている。ウメは重要な果樹でありながら、他の果樹と比べて収量が低く、また不安定であることが問題視されている。このことはウメの主要品種が雄性不稔性であることや自家不和合性であることが原因と考えられているが、はっきりとした原因は明らかになっていない。申請者はウメの花粉の蛍光がセイヨウミツバチの行動に影響している可能性に着目し、南高の花粉を調べ、同一個体中に無蛍光性花粉を持つ花と蛍光性花粉を持つ花が混在していることを初めて明らかにした。蛍光性花粉は個体の約30%の花に認められ、それらは不稔性であることを明らかにした。電子顕微鏡による観察の結果、蛍光性花粉が原形質分離など異常な形態を示すこと、また蛍光性花粉は無蛍光性花粉に比べchlorogenic acidが約7倍多く含まれているのに対して、 $N^1, N^5, N^{10}$ -tri-*p*-coumaroylspermidineは約0.3倍しか含まれていないことを明らかにした。これらのことより花粉が一細胞期以前に低温ストレスを受けて発達が異常になった結果、不稔化したことを示唆した。また無蛍光性花粉と蛍光性花粉の拡散反射スペクトルおよび蛍光スペクトルの比較に基づき、セイヨウミツバチが両者を区別できることも示した。これらの結果から、花粉の発達不良による不稔化とセイヨウミツバチの蛍光に誘引される行動特性によってウメの受粉が非効率化し、収量の低下に繋がっている可能性に初めて言及した。

第5章では、第4章に記した $N^1, N^5, N^{10}$ -tri-*p*-coumaroylspermidineの新規*E-Z*異性体であるZEZ、ZEE、EEZ体の構造決定およびユニークな熱力学的安定性を示すZZZ異性体のコンホメーション解析の結果について記述している。 $N^1, N^5, N^{10}$ -Tri-*p*-coumaroylspermidine全8種の異性体の光異性化平衡比を求めた結果、ZZZ体が最も安定であることを明らかにした。ZZZ体の $^1\text{H}$  NMRとNOESYスペクトル解析と*ab initio* 分子軌道法計算の結果から、ZZZ体の安定化因子が分子内における複数のCH/ $\pi$ とT字型 $\pi/\pi$ 相互作用ならびに水素結合である可能性を初めて明らかにした。

以上のように、本論文は葯と花粉に含まれる蛍光物質がヒドロキシ桂皮酸類であり、紫外線の有害エネルギーを蛍光に変換するだけでなく抗酸化作用によっても花粉中のDNAを保護していることを初めて明らかにするとともに、単離した蛍光物質を用いたセイヨウミツバチの行動実験の結果に基づき、花粉に含まれる蛍光物質が送粉昆虫の視覚的誘引に寄与している可能性を初めて提唱している。さらにウメ果実の収量不安定性の原因として、不稔性花粉がセイヨウミツバチに選好性を示す蛍光を有することなども明らかにしている。以上より本論文は、花粉に含まれる蛍光物質が被子植物とセイヨウミツバチ間のバイオコミュニケーションに重要な役割を果たしている結論している。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。

論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し  
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

花粉が紫外線の下で蛍光を発するという現象は少なくとも1920年代に既に観察されていた。しかしその蛍光物質はこれまでに調べられておらず、また蛍光がどのような機能を担うのかは未知であった。本論文では、その存在が報告されてから約1世紀の間不明であった蛍光物質をヒドロキシ桂皮酸類と同定し、さらに種子植物と送粉昆虫間の系における蛍光物質の生物学的・化学生態学的役割を明らかにしている。評価できる点は以下の通りである。

1. 葯と花粉に含まれる蛍光物質6種をヒドロキシ桂皮酸類と同定し、蛍光物質がポレンコートに局在することを明らかにした。またこれらの蛍光物質に抗酸化活性が認められることから、蛍光物質は紫外線のエネルギーを吸収して蛍光に変換するだけでなく、抗酸化作用によっても花粉中のDNAを保護している可能性を示した。
2. 行動実験によって、セイヨウミツバチが蛍光物質chlorogenic acidに視覚的な選好性を示すことを明らかにした。この結果に基づき、葯と花粉に含まれる蛍光物質が送粉昆虫を視覚的に誘引することに寄与していることを強く示唆した。
3. ウメ（品種 南高）の花には、無蛍光性花粉を持つ花と蛍光性花粉を持つものがあり、蛍光性花粉は不稔性であること、セイヨウミツバチが蛍光に選好性を示すことから、セイヨウミツバチが蛍光を発する不稔性花粉に優先的に訪問する可能性を示唆した。これらのことは、ウメの栽培技術の観点から有用な知見である。
4. ウメ花粉から $N^1, N^5, N^{10}$ -tri-*p*-coumaroylspermidineの*E-Z*異性体8種を単離し、新規異性体3種をZEE、ZEE、EEZ体と構造決定した。異性体8種のうちZZZ体がユニークな熱力学的安定性を有することを示すとともに、ZZZ体の安定性が分子内における複数のCH/ $\pi$ とT字型 $\pi/\pi$ 相互作用ならびに水素結合によってもたらされていることを示した。

以上のように、本論文はこれまで不明であった葯と花粉に含まれる蛍光物質を同定するとともに、それらのDNA保護機能および送粉昆虫の誘引における生態学機能などを明らかにしたものであり、化学生態学ならびに天然物化学、昆虫生理学の発展に寄与するところが大きい。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成30年12月18日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。

また、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降（学位授与日から3ヶ月以内）